

THESIS

MUNICH

1966

VERHALTEN VON E. COLI O 114 GEGENÜBER ANTIBIOTIKA
UND DESINFektionsMITTELN

Stefan Ascher

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.



Aus dem Max v. Pettenkofer-Institut für Hygiene
und med. Mikrobiologie
der Universität München
Direktor: Professor Dr. Dr. H. EYER

VERHALTEN VON E.COLI GEGENÜBER ANTIBIOTIKA
UND DESINFEKTIONSMITTELN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten
Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen
Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
zu München

vorgelegt von
S t e f a n A s c h e r
aus
München

München 1966

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Professor Dr. G. LINZENMEIER

Mitberichterstatter: Professor Dr. Dr. H. EYER

Dekan: Professor Dr. R. ZENKER

Tag der mündlichen Prüfung: 14. 6. 1966

Inhaltsverzeichnis

Einleitung:

Begründung und Aufgabe der vorliegenden Arbeit.

Material und Methodik:

- 1) Aufstellung der in den Versuchen geprüften Stämme von E.coli.
- 2) Methodik der Resistenzbestimmung gegen Antibiotika.
- 3) Methodik der Desinfektionsmittelversuche.

Ergebnisse:

I. Antibiotikaversuche

- 1) Resistenzbilder vom Herbst 1963
- 2) Vergleich der eigenen Resistenzbilder mit den bei der Isolierung erhobenen Befunden.

II. Desinfektionsmittelversuche

- 1) Formalin
- 2) Sagrotan
- 3) Alkalysol
- 4) Incidin
- 5) Chloramin 80
- 6) Quartamon
- 7) Tego 103 S

Diskussion:

- I. Die Antibiotikaversuche.
- II. Die Desinfektionsmittelversuche.
- III. Abschließender Vergleich der Antibiotika-
und Desinfektionsmittelversuche.

Zusammenfassung:

Literaturverzeichnis:

VERHALTEN VON E.COLI GEGENÜBER ANTIBIOTIKA UND DESINFEKTIONSMITTELN

"Wir beobachteten seit November 1959 Fälle von Enteritis, die von einem aus einer Augsburger Klinik eingewiesenen Säugling ausgingen. In den folgenden Monaten wurde in den Stühlen zahlreicher an Enteritis erkrankter Säuglinge E.coli O 114 gefunden, seit dem Februar 1960 fast ausschließlich ein vom klassischen Serotyp O 114:B?:H2 durch ein andersartiges K-(Hüllen-) Antigen abweichender Stamm, der auch andersorts auftritt. Die Mehrzahl dieser Stämme war gegen Streptomycin, Tetracyclin, Chloramphenicol und Neomycin resistent." Weiterhin heißt es in diesem Bericht (3): "Gegenüber den bis dahin geläufigen leichten Fällen von Enteritis war das auffallend schwere klinische Bild der ersten kranken Säuglinge für uns sehr eindrucksvoll. Die Kinder hatten flüssige Stühle in einer Menge und Dauer, wie sie seit der ominösen Gelbstuhlerkrankung gegen Ende des Krieges im Münchner Raum nicht mehr beobachtet worden waren. In wenigen Stunden, bis höchstens zwei Tagen, entwickelte sich eine Gastroenteritis mit Gewichtssturz, bei der die Säuglinge aufgrund ihrer wässrigen, spritzenden, grünlichen Stühle förmlich auszuweichen schienen. Stärkste Dehydratation, Kreislaufschwäche und paralytischer Ileus waren die häufige Folge."

Diese Mitteilungen erklären das Interesse, Dyspepsiecoli vom Typ O 114 auf ihr Verhalten in vitro zu untersuchen, zumal von klinischer Seite über Schwierigkeiten bei der Desinfektion berichtet wurde. Andere Serotypen von Dyspepsiecoli wurden früher schon auf ihr Verhalten gegenüber Desinfektionsmitteln geprüft (5).

Der auffallende Gegensatz einer Mehrfachresistenz der O 114 Keime und der Vollempfindlichkeit vieler anderer Serotypen von E.coli gegen Antibiotika gab Anlaß zu folgender Fragestellung:

Gibt es eine als gesetzmäßig zu betrachtende Beziehung zwischen der Empfindlichkeit oder Resistenz der einzelnen Dyspepsiecoli-Stämme gegenüber Antibiotika und der Desinfektionsmittelwirkung?

Zu letzterer Frage ergab sich während der Versuche, daß die Mehrfachresistenzübertragung bei den Enterobakterien eine Rolle spielt.

Weitere Fragen waren:

Zeigen die Stämme von E.coli O 114 eine unterschiedliche Widerstandsfähigkeit gegenüber den einzelnen Desinfektionsmitteln?

Sind gewisse Stämme gegenüber einer Reihe von Desinfektionsmitteln widerstandsfähiger?

Unterscheiden sich E.coli O 114 wesentlich vom Verhalten der übrigen Dyspepsiecoli gegen Desinfektionsmittel?

Zur Typisierung der Dyspepsiecoli sei auf das Buch von A d a m über "Säuglingsenteritis" (1956) hingewiesen. (1)

Über Vorkommen, Bakteriologie und Epidemiologie der Dyspepsiecoli im süddeutschen Raum - insbesondere auch von E.coli O 114 - geben die Dissertationsschriften von H e l l e r (1963) und K i n d l e r (1963) Auskunft (14), (22).

Material und Methodik

20. Stämme vom Serotyp O 114 wurden aus Stuhlproben von an Enteritis erkrankten Säuglingen, vorwiegend im süddeutschen Raum in den Jahren 1959 - 1962, isoliert und hier untersucht:

Stamm	Serotyp	Stamm	Serotyp
1	O 114a	12	O 114b
2	O 114b	13	O 114a(b)
3	O 114b	14	O 114a(b)
4	O 114b	15	O 114b
5	O 114b	16	O 114b
6	O 114b	17	O 114b
7	O 114b	18	O 114a
8	O 114b	19	O 114a
9	O 114b	20	O 114b
10	O 114a/b		

Als Vergleichsstämme zogen wir 2 Stämme vom Serotyp O 114 aus England und 8 weitere Serotypen von E.coli hinzu:

Stamm	Serotyp	Stamm	Serotyp
21	O 114:K?:H2 (Taylor)	23	O 26:B6 (ATCC)
22	O 114:K?:H2 (Taylor)	24	O 55:B5 (ATCC)
		25	O 111:B4 (ATCC)
		26	O 78:B8o (RYC 330)
		27	O 78:B8o (Kopenhagen)

Stamm	Serotyp
28	O 119:B14 (ATCC)
29	O 119:B14 (American)
30	O 127:B8 (Ørskov)

Alle 30 Stämme wurden einer Resistenzbestimmung durch Antibiotika mit einer vereinfachten Hemmhofmethode, der "zahnradförmigen" Testscheibe, unterzogen (29a-c). Die Ergebnisse aus dem Hemmhoftest wurden mit denen verglichen, welche die Routineuntersuchungen der frisch isolierten Stämme einige Jahre zuvor im Max-von-Pettenkofer-Institut mit derselben Methode erbracht hatten.

Ferner wurden die Keime durch Ansetzen von 7 Versuchsserien mit 7 verschiedenen Desinfektionsmitteln geprüft:

- 1) Formalin
- 2) Sagrotan
- 3) Alkalsol
- 4) Chloramin 80
- 5) Quartamon
- 6) Incidin
- 7) Tego 103 S

Die Methodik der Desinfektionsmittelversuche entsprach den "Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel" (38):

Von jedem Stamm wird zu jedem einzelnen Versuch eine Kultur nach 16-stündiger Bebrütung angelegt. Dieser Kultur-rasen wird mit 0,5 ml Nährbouillon vom Schrägagar abgeschwemmt. So erhält man eine einigermaßen in ihrer Dichte konstante Keimsuspension.

Die Prüfung wurde so vorgenommen, daß 0,1 ml der Keimsuspension bei Zimmertemperatur (18-21°C) in die Mitte von kleinen Petrischalen einpipettiert wurde, die jeweils 10 ml der verschiedenen Verdünnungen des zur Testung verwendeten Präparates enthielten. Nach den vorgesehenen Einwirkungszeiten 1, 2, 3 und 5 Min. wird aus dem Desinfektionsmittel-Keimgemisch mittels Öse mit einem Durchmesser von 4 mm Material entnommen und in 5 ml Nährbouillon eingepflegt. Die so erhaltenen Subkulturen werden nach 24, 48 und 72 Stunden Bebrütung auf Trübung, d. h. Keimentwicklung kontrolliert. Wir ließen die Subkulturen insgesamt 7 Tage im Brutschrank und überwachten sie täglich.

Bei allen Präparaten mit starker Entwicklungshemmung wurde der Subkultur ein Enthemmungsmittel nach den "Richtlinien" zugesetzt.

Als Wachstumskontrolle diente in jedem Versuch 5 ml Nährbouillon, die mit unbehandelten Keimen beimpft wurde.

In vorliegenden Versuchen diente die Methode zur Prüfung chemischer Desinfektionsmittel nach den "Richtlinien" weniger der Ermittlung bakterizid wirkender Konzentrationen einzelner Desinfektionsmittel gegenüber *Dyspepsiecoli*, sondern dem Auffinden solcher (subletaler) Konzentrationen, die ein deutlich "differenziertes Verhalten" der Stämme erkennen lassen. Nur so konnte die Frage nach einer etwa unterschiedlichen Widerstandsfähigkeit von *E.coli* O 114 und der übrigen *Dyspepsiecolistämme* gegenüber Desinfektionsmittel gelöst werden, zumal sich die Stämme gegenüber Antibiotika sehr unterschiedlich verhielten. In zweiter Linie konnten die gefundenen teils nur subletalen Konzentrationen Auskunft geben, ob der Sicherheitsabstand der empfohlenen letalen Konzentrationen der gleichen Desinfektionsmittel für *E.coli*, die nicht der *Dyspepsiecoli*-reihe angehören, ausreicht.

E r g e b n i s s e

I. Antibiotikaversuche

1) Resistenzbilder vom Herbst 1963

Viele Stämme von E.coli O 114 zeichneten sich durch eine Mehrfachresistenz aus. Eine Ausnahme machte der Stamm 8 (O 114b), (Tabelle I).

TABELLE I

Resistenzverhalten der Stämme vom Serotyp O114 im Hemmhoftest
(Eigene Versuche vom Herbst 1963)

Antibiotika	Bakterienstämme																			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Streptomycin	R	R	R	R	R	R	R	E	R	R	R	R	R	R	R	R	R	E	mE	R
Tetracyclin	R	E	E	E	R	R	R	E	R	R	E	R	R	E	E	R	R	E	R	R
Chloramphenicol	R	E	E	E	R	R	R	E	R	E	E	R	R	E	E	R	R	E	R	R
Kanamycin	E	E	E	E	E	E	R	E	E	E	E	R	R	E	E	R	E	E	R	E
Sulfonamide	R	E	E	E	R	R	R	E	R	E	E	R	R	E	E	R	E	R	R	R
Polymyxin	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
Furoxon	E	E	E	E	E	E	R	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E

R = resistent

E = empfindlich

mE = mässig empfindlich

 = Resistenzverlust

Die Keime der anderen Serotypen erwiesen sich bis auf den Stamm 30 (O 127:B8), der gegen Streptomycin und Sulfonamid resistent war, als empfindlich. (Tabelle II).

TABELLE II

*Resistenzverhalten der Stämme vom Serotyp 0114 (2x)
(Taylor), O 26, O 55, O 111, O 78 (2x), O 119 (2x), O 127
im Hemmhoftest
(Eigene Versuche vom Herbst 1963)*

Antibiotika	Bakterienstämme									
	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
<i>Streptomycin</i>	E	E	E	E	E	E	E	E	E	R
<i>Tetracyclin</i>	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
<i>Chloramphenicol</i>	E	E	E	E	E	mE	mE	E	E	E
<i>Kanamycin</i>	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
<i>Sulfonamide</i>	E	E	E	E	mE	E	E	E	E	R
<i>Polymyxin</i>	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
<i>Furoxon</i>	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E

R = resistent

E = empfindlich

mE = mässig empfindlich

Außer Stamm 7 (O 114b), der gegen Furoxon resistent war, waren alle 29 Stämme gegenüber Polymyxin und Furoxon empfindlich.

2) Vergleich der eigenen Resistenzbilder mit den bei der Isolierung erhobenen Befunden

Vergleicht man die Resistenzbilder der Hemmhofteste vom Herbst 1963 mit den Routineuntersuchungen des Max-von-Pettenkofer-Instituts aus den Jahren 1959-1962, so zeigen von 22 Stämmen E.coli O 114 sieben einen Verlust der Mehrfachresistenz. Es sind dies die Stämme 2, 3, 4, 10, 11, 14 und 15, (Tabelle I und III).

TABELLE III

Resistenzverhalten der Stämme vom Serotyp O 114 im Hemmhoftest. (Die bei der Isolierung erhobenen Befunde aus den Jahren 1959-1962)

Antibiotika	Bakterienstämme																			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Streptomycin	R	R	R	R	R	R	R	E	R	R	R	R	R	R	R	R	R	E	mE	R
Tetracyclin	R	R	R	R	R	R	R	E	R	R	R	R	R	R	E	R	R	E	R	R
Chloramphenicol	R	R	R	R	R	R	R	E	R	R	R	R	R	R	E	R	R	E	R	R
Kanamycin	E	E	R	E	E	E	R	E	E	R	E	R	R	R	R	R	E	E	R	E
Sulfonamide	R	R	R	R	R	R	R	E	R	R	R	R	R	R	R	R	R	E	R	R
Polymyxin						E	E	E				E	E	E	E	E	E	E	E	E
Furoxon							R	E							E	E		E	E	
Hemmhoftest von:	1959					1961	1962	1959					1960					1959	1962	1959

R = resistent

E = empfindlich

mE = mässig empfindlich

Bei jedem der 7 Stämme fiel eine gemeinsam wieder erlangte Empfindlichkeit gegen Tetracyclin, Chlor-

amphenicol und Sulfonamide auf. Ein Resistenzverlust gegenüber einem einzelnen Antibiotikum wurde nicht beobachtet. Lag eine Resistenz gegen Kanamycin vor, so ging auch sie im Zuge eines allgemeinen Resistenzverlustes stets verloren, wie es die Stämme 3, 10, 14 und 15 zeigen. Die Resistenz gegen Streptomycin blieb bei allen Stämmen vom S̄erotyp O 114 erhalten.

II. Desinfektionsmittelversuche

1) Formalin

Eigene Versuche:

Formalin wird von A d a m und O c k l i t z in 1,5%iger Lösung zur Grobdesinfektion auf Säuglings-Stationen empfohlen (36).

Um ein unterschiedliches Verhalten der Colibakterien im Suspensionsversuch nach 24 Stunden Brutzeit zu erhalten, mußte überraschenderweise bis zu einer 10%igen Lösung des Formalins gegangen werden. Bei niedrigeren Konzentrationen und nach zwei Min. Einwirkungszeit waren schon nach 24 Stunden die Subkulturen fast ausnahmslos angewachsen.

Bei Anwendung einer 10%igen Konzentration stellte sich nach 18 Stunden ein "differenziertes" Verhalten der Keime ein. Nach etwa 30-stündiger Bebrütungszeit konnte beinahe stündlich verfolgt werden, wie sich die Subkulturen von der 10%igen Formalinwirkung erholten. Nach 48 Stunden waren bis auf wenige Nachzügler alle Röhrchen getrübt. Am 3., 6. und 7. Tag wurden auch diese zum Teil noch trüb, (Tabelle IV).

TABELLE IV

Das Verhalten der Stämme gegenüber 10%iger Formalinlösung bei 1,2,3
5 Minuten Einwirkungszeit

Einwirkungszeit in Minuten	Bakterienstämme														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	(++)	(++)	(++)	(++)	++	(++)	(++)	++	(++)	(++)	++	++	(++)	++	(++)
2	(++)	(++)	(++)	(++)	(++)	⊕ 3. Tag	(++)	(++)	(++)	(++)	(++)	(++)	⊕ 3. Tag	(+)	(+)
3	(++)	(++)	(++)	(++)	(++)	⊕ 3. Tag	(++)	(++)	(++)	(++)	(++)	(++)		(+)	(+)
5	(++)	(++)	(++)	(++)	(++)		⊕ 3. Tag	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)		(+)	(+)

	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
1	++	(++)	++	++	++	++	++	(++)	(++)	(++)			+	(++)	+
2	(++)	(+)	++	++	++	(++)	++		(++)	(++)	(++)		(++)	(++)	(++)
3	(+)	⊕ 3. Tag	++	++	++	(++)	(+)		(++)	⊕ 6. Tag			⊕ 3. Tag		(++)
5	(+)		(++)	(++)	++		(+)		(++)	⊕ 6. Tag					⊕ 7. Tag

++ = starkes Wachstum nach 24 Stunden

+ = schwaches Wachstum nach 24 Stunden

(++) = starkes Wachstum nach 48 Stunden

(+) = schwaches Wachstum nach 48 Stunden

⊕ = Wachstum jenseits der 48-Stundengrenze

Daraufhin wurden einige Stämme vom Serotyp 0 114 und anderen Typen einer 3%igen Formalinlösung eine halbe Stunde lang ausgesetzt. Am 3. und 4. Tag der Bebrütung konnte bei zwei von vier Stämmen noch Wachstum festgestellt werden, (Tabelle V).

TABELLE V

Das Verhalten von 4 Stämmen gegenüber 3%iger Formalinlösung bei $\frac{1}{2}$, 1 und 2 Stunden Einwirkungszeit.

Einwirkungszeit in Stunden	Bakterienstämme			
	8	18	24	26
$\frac{1}{2}$		(+)	⊕	
1				
2				

(+)= Wachstum nach 48 Stunden (2.Tag)

⊕ = Wachstum am 4.Tag

Dieser Versuch wurde mit einer 6%igen Lösung und 10 und 30 Min. Einwirkungszeit wiederholt. Erneutes Wachstum zeigten (abgesehen vom 1. bis 3. Tag der Bebrütung) am 4. und 5. Tag und 10 Min. Einwirkungszeit je eine Subkultur von 10 Stämmen. Auch ohne den vorgeschriebenen Enthemer wuchsen die Subkulturen an, (Tabelle VI).

TABELLE VI

Das Verhalten von 10 Stämmen gegenüber 6%iger Formalinlösung (mit und ohne Enthemmerzusatz) und 5, 10 und 30 Minuten Einwirkungszeit.

Einwirkungszeit in Minuten	Bakterienstämme									
	1	6	12	17	18	19	25	27	28	30
5	+	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+
10	⊕ 5. Tag	(+)	(+)	(+)	⊕ 3. Tag	+	+	+	+	⊕ 3. Tag
30										

+ = Wachstum nach 24 Stunden

(+) = Wachstum nach 48 Stunden

⊕ = Wachstum jenseits der 48-Stundengrenze

„Schraffiert“ = ohne Enthemmerzusatz

Diese Ergebnisse stimmen mit denen von M c
C u l l u c h überein, der bei 6% Formalinlö-
sung und 10 Min. Einwirkungszeit erneutes Wachs-

tum nach 7 Tagen feststellte und bei 3%, 2% und 1% Formalin und 3 Min. Einwirkungszeit ebenfalls nach 7 Tagen noch Trübung der bis dahin klaren Subkulturen von *Erysipelothrix rhusiopathiae* fand. Er führt die vielen unterschiedlichen Ergebnisse der Formalinversuche einzelner Autoren auf nicht genügend langes Aufbewahren der noch klaren Subkulturen im Brutschrank zurück (3a).

Die Wirkungsweise des Formalins:

Wirkstofftyp: Formaldehyd (8a).

Enthemmer: 0,5% Histidinmonochlorid.

Die Wirkungsweise des Formalins wurde erst in allerjüngster Zeit hinreichend erforscht. Elektronenmikroskopische Untersuchungen von Malchenko v (1962) zeigen, daß Formalin in einer Verdünnung von 0,17% mehr das Cytoplasma als die Zellmembran angreift (33). Biochemische Experimente von Neely (1963) mit radioaktiv markiertem C-Atom im Formaldehydmolekül brachten überraschende Ergebnisse: Markiertes Formaldehyd wirkte in Subletaler Konzentration auf *Aerobacter aerogenes* ein. Seine Wirkung vollzog sich in zwei Phasen. Die erste Phase verursachte einen Verlust der Lebensfähigkeit der meisten Mikroorganismen, gefolgt von einer zweiten Phase in der bakteriostatische Bedingungen vorherrschen. Während beider Phasen wurde Formaldehyd metabolisiert. Sobald die Keime die Formaldehydkonzentration bis zu einem kritischen Niveau gesenkt hatten, wurde der normale Vermehrungszyklus wieder

fortgesetzt. In dem radioaktiven Heißwasserextrakt fand man die Bildung einer 1,3-thiazon-4-carboxyl-Säure, welche eine nicht - enzymatische Verbindung aus Homocystein und dem markierten Formaldehyd darstellt. Homocystein ist also fähig, die Aktivität des Formaldehyds in einer Mol-zu-Mol-Reaktion zu vernichten. Jedoch ist diese Bildung von 1,3-thiazon-4-carboxyl-Säure wiederum fähig, die Synthese von Methionin zu verhindern, einer unerläßlichen Aminosäure zur Cytoplasmasyntese der Mikroorganismen. Hieraus erklärt sich die bakteriostatische Phase der Formaldehydaktivität. (35a-c)

2) Sagrotan

Eigene Versuche:

Die bakterizide Wirkung des Sagrotans wird von der Firma Schülke & Mayr (Hamburg) mit 0,7% bei 5 Min. Einwirkungszeit auf E.coli im Suspensionsversuch angegeben (10a). Diese Angaben entsprechen auch den Ergebnissen unserer Dyspepsiecoli-Versuche.

Ein "differenziertes Verhalten" der Keime konnte bei 24stündiger Bebrütungszeit schon mit einer 0,3%igen Lösung von Sagrotan erhalten werden. 0,1% Sagrotan erwies sich als zu schwach, da noch nach 5 Min. Einwirkungszeit die Mehrzahl der Stämme zu überleben vermochte. Eine Konzentration von 0,5% überstand keine der Keimsuspensionen bei 1 Min. Einwirkungszeit.

Die Stämme 10 (O 114a/b) und 20 (O 114b) zeichneten sich durch besondere Widerstandsfähigkeit gegenüber 0,3% Sagrotan aus (Tabelle VII).

TABELLE VII

Das Verhalten der Stämme gegenüber 0,3%iger Sagrotanlösung bei 1,2,3 und 5 Minuten Einwirkungszeit.

Einwirkungszeit in Minuten	Bakterienstämme														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	++	++	++	++	++		++	++	++	++		++		++	
2		++	++				++		++	++				++	
3									++	++		++		++	
5										++					

	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
1	++		++	++	++			++	++	++					
2	++		++	++	++				++						
3	++				++				++						
5					(++)										

++ = starkes Wachstum nach 24 Stunden

(++) = starkes Wachstum nach 48 Stunden

Der Stamm 10 wuchs noch nach 5 Min. Einwirkungszeit und 24 Stunden Bebrütung, der Stamm 20 nach 48-stündiger Bebrütung und 5 Min. Einwirkungszeit an. Der Stamm 20 zeigte noch Trübung seiner Subkultur, die nach 3 Min. Einwirkungszeit angelegt war und ebenfalls 48 Stunden bebrütet wurde.

Die Keime außerhalb der O 114-Reihe schienen mit Ausnahme von Stamm 24 (O 55:B5) im Durchschnitt empfindlicher gegenüber Sagrotaneinwirkung zu sein als die Stämme vom Serotyp O 114.

Wie alle Versuchsreihen wurde auch diese 7 Tage im Brutschrank aufbewahrt, ohne daß jedoch weitere Subkulturen über die Zeit von 48 Stunden Bebrütung hinaus anwuchsen.

Die Wirkungsweise des Sagrotans:

Wirkstofftyp: Alkylierte, aralkylierte und
halogenierte Phenole (8a).
Enthemmer: 0,8% Tween 80.

Die Wirkungsweise des Sagrotans, bzw. Phenols und seiner Derivate wird in der Literatur öfters widerspruchsvoll und stets als sehr vielseitig beschrieben. Es steht jedoch fest, daß Phenol in hoher Konzentration ein starkes Zellgift ist, rasch in die Zellwand eindringt, die Zelle zerreißt und die Zellproteine koaguliert. Niedrigere Konzentrationen scheinen den Tod der Bakterienzelle jedoch eher durch Inaktivierung lebenswichtiger Enzyme herbeizuführen (24).

K l a r m a n und Mitarbeiter (1929) fanden, daß die Aktivität der freien Hydroxylgruppe durch Substitution von Alkyl- oder Halogenresten in den Phenolkern verstärkt werde und Eigenschaften wie Vergrößerung des Verteilungskoeffizienten zwischen wässriger und nicht wässriger Phase Verminderung der Oberflächenspannung, vermehrte elektrolytische Dissoziation, Verstärkung des Säurecharakters des Phenolderivates usw. hervorgerufen werden (25).

G a l e und T a y l o r (1947) erklärten die antibakterielle Eigenschaft von Phenol durch den Einfluß auf die Permeabilität der Zellmembran, sodaß wichtige Aminosäuren aus dem Zellinnern freigelassen werden (6).

Auf Gleiches weisen die elektronenmikroskopischen Untersuchungen von M a l e n k o v (1962) hin. Phenol in einer Verdünnung von 0,13% oder 0,11% schien mehr auf die Zellmembran als auf das Cytoplasma zu wirken. Die Membran wurde mit der Zeit brüchig, es resultierte zunächst mehr eine Schwächung der Zellteilung, dann des Zellwachstums und zuletzt eine Zelldegeneration (33).

R o b e r t s und R a h n (1946) zeigten, daß Phenol bei einer Konzentration von 0,075% wenig Einfluß auf Dehydrogenase, Oxydase oder Katalase hatten, während bei einer subletalen Konzentration von 0,15% Oxydase inaktiviert wird nicht aber Katalase und letale Konzentrationen von 1,2% z. B. sowohl Oxydase wie Dehydrogenaseaktivität ausschalten. Katalase wurde aber erst bei 38% unwirksam (39).

3) Alkalysol

Eigene Versuche:

Eine 0,3%ige Lösung des Präparates überlebten alle Stämme. 0,6%iges Alkalysol wirkte erst nach 3 Min. bakterizid, wohingegen 0,9% bei 1 Min. Einwirkungszeit letal war. Zur Differenzierung der Keime mit Alkalysol griffen wir zu einer 0,7%igen Lösung, die alle Stämme bis auf wenige Ausnahmen gleichförmig nach 1 Min. noch überlebten (Tabelle VIII).

TABELLE VIII

Das Verhalten der Stämme gegenüber 0,7%iger Alkalysollösung bei 1,2,3 und 5 Minuten Einwirkungszeit

Einwirkungszeit in Minuten	Bakterienstämme														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	++	++	++	+	++	++		++			++			++	++
2															
3															
5															

	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
1	++		++	++	++			++	++	++				++	++
2															
3															
5															

++ = starkes Wachstum nach 24 Stunden

+ = schwaches Wachstum nach 24 Stunden

Interessant ist zu sehen, daß der Sagrotan gegenüber so widerstandsfähige Stamm 10 (O 114a/b) 0,7% Alkalysol gegenüber sich empfindlicher als der Durchschnitt der Keime erwies, der Stamm 20 (O 114b) sich jetzt von den übrigen Stämmen nicht unterscheidet (vergl. Tabelle VII mit Tabelle VIII).

Auch scheint Alkalysol auf alle Serotypen gleich zu wirken.

Alkalysol zeigte sich bei diesen Versuchen voll bakterizid. Über 24 Stunden Bebrütung hinaus war kein weiteres Wachstum zu verzeichnen.

Die Wirkungsweise des Alkalysols:

Wirkstofftyp: Kresol und Alkali. (8a).

Enthemmer: 1%iges Tween 80.

Die Wirkungsweise des Alkalysols bzw. des Kresols ($C_6H_4OHCH_3$) ist der des Phenols (C_6H_5OH) sehr ähnlich. Die Substituierung von Methylgruppen verstärkt die bakterizide Wirkung des Phenols, verschlechtert jedoch die Wasserlöslichkeit. Da die Kresole nur mäßig in Wasser löslich sind, jedoch bei Anwesenheit von Seifen und Alkalien leicht Emulsionen bilden, vereinigte man diese Kombination im Alkalysol (3b).

4) Incidin

Eigene Versuche:

Nach Untersuchungen des Hygiene-Instituts der Stadt Dortmund vermag 1% Incidin im Suspensionsversuch E.coli in 15 Min. abzutöten (26). Dieses Ergebnis entspricht etwa unseren Versuchen mit Dyspepsiecoli-Keimen.

Eine 1%ige Lösung von Incidin überlebten alle Teststämme noch nach 5 Min. Einwirkungszeit, 3%ige Lösung erwies sich erst nach 3 Min. für die Mehrzahl der Keime und 7% schon nach 1 Min. als bakteriostatisch. Erst 8%iges Incidin wirkte baktericid.

Ein gut "differenziertes Verhalten" der Keime wurde mit einer 6%igen Lösung erzielt. Hierbei zeigte sich zum ersten Mal der Stamm 8 (O 114b) besonders widerstandsfähig. Noch nach 48 Stunden wuchsen seine Subkulturen an, die einer 2 und 3 Min. langen Einwirkungszeit ausgesetzt waren. Gleiches gilt auch für den Stamm 24 (O 55:B5). Weitere 4 Stämme, darunter auch der Stamm 30 (O 127:B8), wuchsen nach 2 Min. Einwirkungszeit und 48 Stunden Bebrütung an (Tabelle IX).

TABELLE IX

Das Verhalten der Stämme gegenüber 6%iger Incidinlösung bei 1, 2, 3 und 5 Minuten Einwirkungszeit

Einwirkungszeit in Minuten	Bakterienstämme														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1			(++)	++	++			++	++	++	(++)	++		++	
2								(++)	(++)	++					
3								(++)							
5															

	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
1	+		++	++	++	++			++						++
2			(++)	(++)	(+)				(++)	(++)					(++)
3									(++)						
5															

++ = starkes Wachstum nach 24 Stunden

+ = schwaches Wachstum nach 24 Stunden

(++) = starkes Wachstum nach 48 Stunden

(+) = schwaches Wachstum nach 48 Stunden

Trotz ähnlicher wachstumsverzögernder Wirkung wie Formalin in den ersten 48 Stunden, zeigte sich kein weiteres Anwachsen der Subkulturen über 48 Stunden hinaus, obwohl auch hier wieder enthemmende Substanzen zugesetzt wurden.

Insgesamt erwiesen sich die O 114-Stämme als etwas widerstandsfähiger im Vergleich zu den übrigen Stämmen. Eine Ausnahme bildete jedoch der Stamm 24 (O 55: B5).

Die Wirkungsweise des Incidin:

Wirkstofftyp: Organozinnverbindungen, Formaldehyd und Formaldehydderivate (6).

Enthemmer: 0,25% Thioglykolat und 0,5% Histidin.

Ähnlich wie Kupfer-, Silber- und Quecksilbersalze besitzt Zinn eine vorwiegend bakteriostatische Wirkung, die von den Metallionen selber ausgeht.

Eine bakterizide Wirkung der Organozinnverbindungen ist nur in Verbindung mit anderen Desinfektionssubstanzen zu erzielen, wie die Untersuchungen von L. G r ü n (1964) gezeigt haben (7). Incidin ist eine Kombination von Tributylzinn-Benzolat mit Formaldehyd.

Tributylzinnverbindungen wirken jedoch nur gegen grampositive Bakterien, Tripropylzinnverbindungen aber gleich intensiv gegen grampositive wie gramnegative Keime. Tributylzinnverbindungen vermochten mit 0,1% noch Wachstum von E.coli zu unterdrücken, gleiches gelang Tripropylzinnverbindungen jedoch schon mit 0,016%.

5) Chloramin 80

Eigene Versuche:

O c k l i t z hebt unter einer Reihe von Desinfektionsmitteln die Bedeutung des Chloramins in 2%iger Lösung zur Desinfektion auf Säuglingsstationen hervor. (30). Eigene Versuche zeigten eine hohe Empfindlichkeit der Dyspepsie-Keime gegenüber Chloramin 80.

Konzentrationen von 0,5% überlebte keiner der Stämme nach 5 Min. Einwirkungszeit. Eine 0,2%ige Lösung war noch bakterizid, eine 0,09%ige Lösung schon zu schwach um ein differenziertes Verhalten der Keime erkennen zu lassen. Für unsere Fragestellung war eine 0,12%ige Konzentration von Chloramin 80 am günstigsten.

Wieder zeichneten sich die beiden Stämme 8 (O 114b) und 9 (O 114b) durch besondere Widerstandsfähigkeit aus. Ersterer wuchs noch nach 3 Min., letzterer nach 5 Min. Einwirkungszeit und 24 Stunden Bebrütung an. (Tabelle X).

TABELLE X

Das Verhalten der Stämme gegenüber 0,12%iger Lösung von Chloramin 80 bei 1,2,3 und 5 Minuten Einwirkungszeit.

Einwirkungszeit in Minuten	Bakterienstämme														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	++		++				++	++	++	++		++		++	++
2								++	++						
3								++	++						
5									++						

	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
1	++		++	++	++			++	++	++	++	++	++	++	
2								++	++	++	++	++	++		
3									++		++		++		
5									++						

++ = starkes Wachstum nach 24 Stunden

Überraschend war, daß Chloramin 80 in 0,12%iger Konzentration auf die Stämme der anderen Serotypen etwas weniger bakterizid wirkte als auf die Keime der O 114 Reihe. Sehr widerstandsfähig war wieder der Stamm 24 (O 55:B5), der nach 5 Minuten Einwirkungszeit noch anwuchs.

Eine Bebrütung über 24 Stunden hinaus brachte kein weiteres Wachstum.

Die Wirkungsweise des Chloramin 80:

Wirkstofftyp: aktives Chlor (8a).

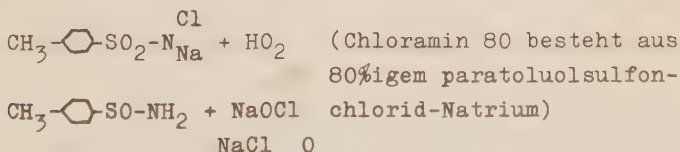
Enthemmer: (entfällt, da keine Angaben in den "Richtlinien" vorliegen (38).

Das aktive Chlor steht in der Bindung N-Cl zu 25% zur Verfügung (12).

Über die exakte Wirkungsweise des Chloramins herrscht noch Unklarheit. J o h n s (1934) behauptet, Chloramin würde zu hyperchloriger Säure hydrolysieren und durch sie bakterizid wirken (20).

H o l w e r d a (1928) konnte keine hyperchlorige Säure in Chloraminlösungen finden (15). S c h m e l k e s und H o r n i n g (1935) sagen, daß es keinen direkten Zusammenhang zwischen dem Oxydationspotential und der bakteriziden Wirkung des Chloramins gäbe (42).

In den Veröffentlichungen der chem. Fabrik von Heyden AG (München) über Chloramin 80 wird die bakterizide Wirkung des Präparates auf das Freiwerden von aktivem Sauerstoff zurückgeführt, der in statu nascendi eine stark oxydierende und damit bakterizide Wirkung entfaltet:



H e i c k e n (1956) sagt, daß die bakterizide Wirkung des Chlors auf Oxydationsreaktionen mit der Bakterienzelle beruht. Deshalb sei anzunehmen, daß die bakterizide Wirkung eines Oxydationsmittels um so energischer sein wird, je stärker seine Oxydationskraft ist (11).

6) Quartamon

Eigene Versuche:

1%iges Quartamon tötet nach Versuchen am Hygiene Institut Heidelberg in weniger als 1 Min. E.coli im Suspensionsversuch ab (10b). Zu einem gleichen Ergebnis führten eigene Versuche.

Eine 0,1%ige Lösung überlebte keiner der Stämme. Auch 0,05% Quartamon wirkte noch letal. Eine Konzentration von 0,017% ergab ein gut "differenziertes Verhalten."

Wieder zeigte sich der Stamm 9 (O 114b) am wenigsten empfindlich. Durch gleiche Widerstandsfähigkeit zeichnete sich auch der Stamm 16 (O 114b) aus, der ebenfalls noch nach 5 Min. Einwirkungszeit von 0,017% Quartamonlösung anwuchs (Tabelle XI).

TABELLE XI

Das Verhalten der Stämme gegenüber 0,017%iger Quartamonlösung bei 1,2,3 und 5 Minuten Einwirkungszeit

Einwirkungszeit in Minuten	Bakterienstämme														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	++		++		++		++	++	++	++	++	++	++	++	++
2								++	++			++	++		
3									++						
5									++						

	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
1	++			++	++				++				++	++	
2	++			++											
3	++														
5	++														

++ = starkes Wachstum nach 24 Stunden

Die Ergebnisse der Versuchsreihe mit Quartamon verdeutlichen, daß die Wirkung eines Desinfektionsmittels auch auf die verschiedenen Stämme, die dem gleichen Serotyp angehören, kaum vorhersagbar ist. Der Stamm 16 hatte sich bis jetzt nicht wesentlich von den anderen O 114 Stämmen durch besondere Widerstandsfähigkeit unterschieden.

Die Keime der anderen Serotypen erwiesen sich wieder mit Ausnahme von Stamm 24 (O 55:B5) als etwas empfindlicher gegenüber der Quartamoneinwirkung.

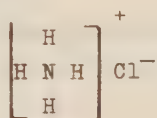
Eine Bebrütung über 24 Stunden hinaus brachte kein weiteres Anwachsen der Subkulturen.

Die Wirkungsweise des Quartamons:

Wirkstofftyp: Quartäre Ammoniumverbindungen (8a).

Enthemmer: 3% Tween 80 und 0,3% Lecithin.

Die quartären Ammoniumverbindungen, kurz "Quats" genannt, sind nach dem Prinzip des Ammoniumchlorids gebaut und gleichen kationaktiven Seifen:



Die H-Atome sind hier ersetzt durch eine oder mehrere Alkylgruppen oder ein Phenolradikal, wobei eines der H-Atome von einer Kohlenstoffkette substituiert wird, die 8 bis 18 C-Atome erhalten kann. Auf dieser langen Kohlenstoffkette beruht die Oberflächenaktivität der Verbindung (27).

M ü l l e r, B a k e r u n d H a r r i s o n (1939), J e r c h e l (1943), O r d a l u n d B o r g (1942), S e v a g u n d R o s s (1944) zeigten den Einfluß der Quats auf die Bakterienzellatmung und die Glykolyse, den diese Verbindungen durch Hemmung der Oxydation gewisser Kohlehydrate ausüben (34); (19); (37); (41).

H o t c h k i s s (1946) u n d E g g e n b e r g e r u n d Mitarbeiter (1950) fanden, daß Quats und andere oberflächenaktive Verbindungen wie Dodekylammoniumchlorid und Alkyldimethylbenzylammoniumchlorid Stickstoff- und Phosphorverbindungen, sowie auch Elektrolyte aus dem Zellinnern freilassen. Viele andere nicht oberflächenaktive Desinfektionsmittel hatten diese Fähigkeit nicht (17); (4).

7) Tego 103 S

Eigene Versuche:

D. H o s t e r empfahl 1954 Tego 103 in 1%iger Lösung zum Gebrauch auf Säuglingsstationen (16). Die Th. Goldschmidt AG, Essen, gibt jedoch noch ein Wachstum von E.coli im Suspensionsversuch bei 1 Min. Einwirken von 1% Tego 103 S an, kein Wachstum mehr fand man indessen nach 3 Min. Einwirkungszeit. Unsere eigenen Versuche ergaben ein Abtöten der Dyspepsiecoli mit weit niederen Konzentrationen wie oben angegeben bei 1 Min. Einwirkungszeit.

Eine 0,3- und 0,1%ige Lösung von Tego 103 S überlebte keiner der Stämme nach 1 Min. Einwirkungszeit. 0,08% war noch bakterizid. Mit einer 0,05%igen Konzentration konnte ein "differenziertes Verhalten" der Keime erreicht werden.

Die Stämme 8 und 9 unterschieden sich diesmal nicht von den übrigen Keimen der O 114-Reihe, die im Durchschnitt nach 1 Min. Einwirkungszeit von 0,05% Tego 103 s noch anwuchsen (Tabelle XII).

TABELLE XII

Das Verhalten der Stämme gegenüber 0,05%iger Lösung von Tego 103 S bei
1, 2, 3 und 5 Minuten Einwirkungszeit

Einwirkungszeit in Minuten	Bakterienstämme														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1		++	++				++	++	++		++	++	++	++	++
2											++				
3											++				
5											++				

	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
1	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++		++	++	++	++
2									++	++		++			
3										++			++		
5															

++ = starkes Wachstum nach 24 Stunden

Eine Ausnahme machte diesmal der Stamm 11 vom Serotyp O 114a, der sogar noch nach 5 Min. Einwirkungszeit anwuchs. Eine weitere Überraschung brachten die Keime der anderen Serotypen, die im Durchschnitt sich jetzt wieder weniger empfindlich zeigten im Vergleich zur O 114-Reihe.

Wieder wird klar, wie unterschiedlich und unvorherbestimmbar die einzelnen Stämme auf verschiedene Desinfektionsmittel reagieren.

Eine längere Bebrütung als 24 Stunden führte zu keinem weiteren Anwachsen der Subkulturen.

Die Wirkungsweise von Tego 103 S:

Wirkstofftyp: Ampho-Tensid (8a).

Enthemmer: 0,5% Tween 80.

Die Tego-Tenside bilden als Aminosäuren in Wasser Kationen, Anionen und sogenannte Zwitterionen:



Im Tego 103 S liegt ein Präparat vor, das eine Zwischenstellung unter den anionischen (normalen Seifen) und kationischen (Quats) Tensiden einnimmt. Seine Wirkungsweise ist somit zu einem Teil schon bei den quar-
tären Ammoniumverbindungen beschrieben worden. Als neue Eigenschaft kommt noch das besondere Reinigungs-
vermögen der Ampho-Tenside hinzu (46).

Diskussion

I. Antibiotikaversuche:

Die Mehrfachresistenz und ihr Verlust bei den Stämmen vom Serotyp O 114 zwingen zur Beschäftigung mit den Untersuchungen von W a t a n a b e (1960) und L e b e k (1963) (45); (28a).

Ihre Versuche mit der Übertragung einer Mehrfachresistenz von resistenten Colistämmen auf andere, aber empfindliche Enterobakterien, machen es sehr wahrscheinlich, daß für die Entstehung und plötzliche Ausbreitung der Mehrfachresistenz von Dyspepsiecoli, besonders des neuen Serotyps O 114, der Mechanismus einer "episomalen" Resistenzübertragung verantwortlich ist.

L e b e k kam zu dieser Schlußfolgerung: "da bei den Übertragungsversuchen immer nur Resistenzvarianten des vorher empfindlichen Acceptorstammes gewonnen wurden, die das ganze Resistenzspektrum bestehend aus der Resistenz gegen Streptomycin, Tetracyclin, Chloramphenicol, Kanamycin und Sulfonamide vom Donatorstamm übertragen erhielten, konnten parasexuelle Rekombination (F-Duktion), Transformation und Transduktion als Mechanismus der Resistenzübertragung ausgeschlossen werden" (28b). Letztere drei Übertragungsmechanismen können meist nur eine, selten mehr Eigenschaften auf einmal auf Zellen des Acceptorstammes übertragen, bei außerdem geringerer Übertragungsfrequenz, wie sie experimentell erreicht wurden (28c).

Die "Episome" stellen Resistenz übertragende Faktoren dar. Sie sind gemäß der Definition von J a k o b und W o l l m a n nicht lebensnotwendige genetische Elemente. Sie können in einem cytoplasmatischen Zustand mit der Potenz zur autonomen Vermehrung und in einem chromosomal integrierten Zustand vorkommen. Im cytoplasmatischen Zustand können sie dadurch die Eigenschaften übertragen, deren Gene sie aufgenommen haben, etwa die Gene für eine Mehrfachresistenz, wie man sie bei den Keimen der O 114-Reihe vorfindet (18).

Es fand also eine Übertragung der Mehrfachresistenz von resistenten auf empfindliche Dyspepsiecoli-Stämme "in vivo" statt. Diese Vermutung wurde schon 1961 von L i n z e n m e i e r und F r e i s l e d e r e r ausgesprochen (29c).

Gleichsam als Gegenstück zur Entwicklung einer Mehrfachresistenz gegenüber Antibiotika und Chemotherapeutika war in unseren eigenen Versuchen ein Verlust der Mehrfachresistenz festzustellen. Wie oben (Ergebnisse) schon erwähnt, ging ein volles Resistenzbild verloren, nicht aber nur die Resistenz gegenüber einem einzigen Antibiotikum. Das Resistenzbild umfaßte ähnlich wie in den Versuchen von L e b e k die Antibiotika Tetracyclin, Chloramphenicol, Sulfonamide und Antibiotika der Neomycingruppe. Mit Ausnahme der erhalten gebliebenen Resistenz gegenüber Streptomycin wurden 7 Stämme während ihrer drei- bzw. vierjährigen Konservierung auf Eiernährböden wieder vollemmpfindlich.

L e b e k konnte nach einer Reihe von Pässagen bei der durch Übertragung resistent gewordene Salmonellen, einen spontanen Resistenzverlust feststellen (28c).

Es ist durchaus möglich, daß die episomal übertragene Mehrfachresistenz bei den oben angeführten 7 Stämmen spontan verloren ging. Die Mehrfachresistenz war also genetisch nicht fest verankert. L e b e k konnte auch keine biochemischen Veränderungen in den Acceptorkeimen nach erfolgter Übertragung der Mehrfachresistenz finden (28c).

Beim Stamm 10 vom Serotyp O 114 waren in den Hemmhöfen von Kanamycin winzige resistente Kolonien, die erneut ausgespatelt, das alte Bild der Mehrfachresistenz aus dem Jahre 1959 zeigten. Hier waren resistente Varianten trotz allgemeinen Resistenzverlustes des Stammes noch vorhanden.

II. Desinfektionsmittelversuche:

Wie aus den elektronenmikroskopischen Untersuchungen von S k v o r t s o v a und L i k h a c h e v a (1963) bekannt ist, verursachen verschiedene Desinfektionsmittel ganz unterschiedliche morphologische Veränderungen an den Mikroorganismen. Sogar im gleichen Mikroorganismus erscheinen mehrere Veränderungen, wenn sie unterschiedlichen Desinfektionsmitteln ausgesetzt sind (43).

M a l c h e n k o v (1962) schließt aus seinen elektronenmikroskopischen Beobachtungen, daß die verschiedenen Reaktionen, die Desinfektionsmittel auslösen, in erster Linie von ihrer chemischen Struktur abhängig sind (33).

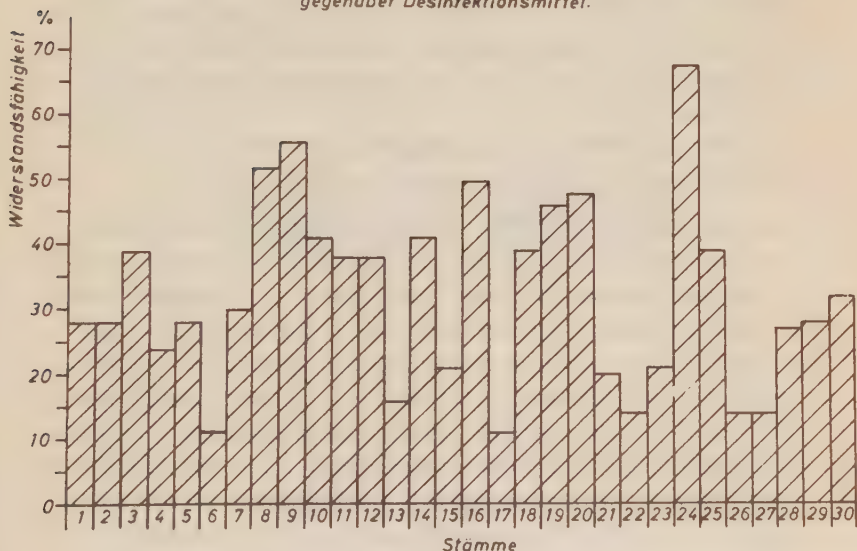
Eingedenk der Tatsache, daß die verschiedenen Desinfektionsmittel ganz unterschiedliche physiko-chemische Reaktionen in den gleichen Mikroorganismen bewirken und damit sehr wahrscheinlich auch ein unterschiedliches Verhalten der Widerstandsfähigkeit hervorrufen, soll dennoch versucht werden, durch Vergleich der Resistenzbilder aus den 7 Testreihen, zu einer Gesamtübersicht des Widerstandsverhalten der einzelnen Stämme zu gelangen.

Wenn die größtmögliche Widerstandsfähigkeit, die ein einzelner von den 30 untersuchten Stämmen bei Anwendung subletaler Konzentrationen von Desinfektionsmitteln erreichen kann, gleich 100% gesetzt wird und man den Prozentsatz der Widerstandsfähigkeit an den "Kreuzchen" abliest, die ein einzelner Stamm als Markierung seiner Widerstandsfähigkeit in den Tabellen IV, VII, VIII, IX, X, XI, XII, erhalten hat, so kann man eine

graphische Übersicht des Verhaltens der Widerstandsfähigkeit der einzelnen Stämme in den 7 Versuchsreihen geben. In die Ordinate wird der Prozentsatz an erlangter Widerstandsfähigkeit eingetragen und in die Abscisse die einzelnen Stämme (Tabelle XIII). 100% entspräche 56 Kreuzchen, das ist die Höchstzahl, die ein einzelner Stamm in den 7 Versuchsreihen insgesamt hätte erhalten können.

TABELLE XIII

Zusammenfassende Darstellung des Verhaltens der einzelnen Stämme gegenüber Desinfektionsmittel.



Aus der graphischen Übersicht der insgesamt festgestellten Widerstandsfähigkeit der einzelnen Stämme in Tabelle XIII ist zu ersehen, daß der Stamm 24 (O 55:B5) die größte Widerstandsfähigkeit mit 68% aufweist. Ihm

folgen die Stämme 9 (O 114a), dann 8 (O 114b) mit 64- und 52%, kurz darauf die Stämme 16 (O 114b) und 20 (O 114b). Die geringste Widerstandsfähigkeit zeigten die Stämme 6 und 7 mit 11%, ebenfalls vom Serotyp O 114b.

Die graphische Übersicht zeigt, daß einzelne Stämme, gleichgültig, ob sie dem Serotyp O 114 angehören oder nicht, eine Vielzahl ihres gleichen um mehr als das Doppelte an Widerstandsfähigkeit überragen, also besonders hartnäckig sich einer Reihe von Desinfektionsmitteln und daher auch einer Desinfektion gegenüber verhalten können.

Aus den Versuchsreihen der 7 Desinfektionsmittel wurde klar, daß sich oftmals der gleiche Stamm verschiedenen Desinfektionsmitteln gegenüber, und die verschiedenen Stämme einzelnen Desinfektionsmitteln gegenüber unterschiedlich verhalten können.

Für die Praxis bedeuten obige Ergebnisse, ein Krankenhaus sollte sich niemals auf die Wirksamkeit eines einzelnen Präparates zur Desinfektion verlassen, sondern durch Anwendung verschiedener Präparate in zeitlicher Folge auch für den gleichen Zweck, wie z.B. der Grobdesinfektion, alle nur möglichen Stammvarianten mit ihrer besonderen Widerstandsfähigkeit einzelnen Desinfektionsmitteln gegenüber, zu vernichten versuchen. Eine Anwendung mehrerer Präparate würde auch eine Steigerung der Widerstandsfähigkeit einem bestimmten Desinfektionsmittel gegenüber verhindern, wie sie K i r c h h o f f (1962) besonders bei *Dyspeisecoli* feststellen konnte (23).

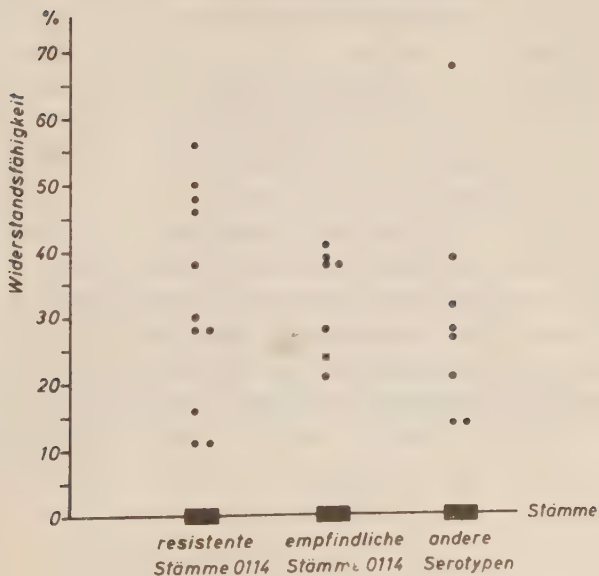
III. Abschließender Vergleich der Antibiotika- und Desinfektionsmittelversuche

Vergleicht man abschließend die Versuche mit Desinfektionsmittel und Antibiotika, so wird klar, daß zwischen den Resistenzbildern von E.coli O 114 sowie dem anderen Serotypen von E.coli gegenüber Antibiotika und dem Verhalten dieser Stämme gegenüber Desinfektionsmittel kein sicherer Zusammenhang besteht.

Eine Darstellung der Widerstandsfähigkeit der Stämme gegenüber Desinfektionsmittel, getrennt nach ihrem Resistenzverhalten gegenüber Antibiotika, erfolgte in Tabelle XIV.

TABELLE XIV

Darstellung des Verhaltens der Stämme gegenüber Desinfektionsmittel, getrennt in drei Gruppen, die sich aus dem Resistenzverhalten der Stämme Antibiotika gegenüber ergaben.



Der Prozentsatz an gegenüber Desinfektionsmittel beobachteter Widerstandsfähigkeit (an der Zahl der "Kreuze" wie für Tabelle XIII abgelesen) wurde in die Ordinate eingetragen, in die Abscisse drei Gruppen: die gegenüber Antibiotika resistenten und empfindlichen Stämme von E.coli O 114 sowie die anderen Serotypen. Die durchschnittliche Widerstandsfähigkeit der 11 resistenten O 114-Stämme beträgt 32,9%, der 7 wieder empfindlich gewordenen O 114-Stämme 32,6% und der anderen Serotypen 31,6%. Wie aus der Streuung der Widerstandsfähigkeit der einzelnen Stämme in Tabelle XIV zu erwarten ist, lassen die errechneten Werte der durchschnittlichen Widerstandsfähigkeit der drei Gruppen keinen deutlichen Unterschied erkennen, d.h. ihr Verhalten gegenüber den 7 Desinfektionsmitteln war recht gleichförmig.

Auch das Verhalten der einzelnen Stämme für sich betrachtet, ließ keine gesetzmäßigen Beziehungen zwischen der Empfindlichkeit der Resistenz gegenüber Antibiotika und Desinfektionsmitteleinwirkung erkennen, wenn wir Tabellen I und II mit Tabelle XIII vergleichen. Der Stamm 24 (O 55:B5) z.B. erwies sich besonders widerstandsfähig gegen eine Desinfektionsmitteleinwirkung (Tabelle XIII), unterschied sich aber nicht der üblichen Vollempfindlichkeit gegenüber Antibiotika derjenigen Serotypen, die nicht zur O 114-Reihe gehören (Tabelle II). Der ebenfalls gegenüber Desinfektionsmittel sehr widerstandsfähige Stamm 9 (O 114b) Tabelle XIII) zeigte die allgemein charakteristische Mehrfachresistenz der E.coli O 114 gegenüber Antibiotika (Tabelle I). Die sich als empfindlich gegen Desinfektionsmittel erweisenden Stämme 6 und 17 (beide

vom Serotyp O 114) (Tabelle XIII) zeichneten sich durch ein gleiches Resistenzbild im Hemmhoftest aus wie Stamm 9 (Tabelle I). Der gegenüber Antibiotika vollempfindliche Stamm 8 (O 114b) (Tabelle I) war gegenüber Desinfektionsmittel relativ widerstandsfähig, doch ähnlich verhielt sich Desinfektionsmittel gegenüber der Stamm 16 (O 114b), der gegenüber Antibiotika voll resistent war (vergl. Tabelle I mit Tabelle XIII).

Der Grund dafür, warum es keine gesetzmäßige Beziehung zwischen dem Verhalten der Keime gegenüber Antibiotika und Desinfektionsmitteln geben kann, ist wahrscheinlich die Tatsache, daß, wie in der Diskussion der Antibiotikaversuche schon gesagt wurde, die Mehrfachresistenz der O 114-Keime gegen Antibiotika auf genetisch anderer Basis beruht als die Widerstandsfähigkeit gegen Desinfektionsmittel. Das dürfte auch daraus hervorgehen, daß die genetisch labilen Stämme mit wieder erlangter Empfindlichkeit sich von den resistenten O 114-Stämme gegenüber Desinfektionsmittel nicht unterschieden. Das Resistenzverhalten der O 114-Stämme gegen Antibiotika spiegelte keinesfalls die Vitalität der Keime gegenüber einer Desinfektionsmitteleinwirkung wieder.

Versuche zur Resistenzsteigerung von Dyspepsiecolikeimen gegenüber Desinfektionsmittel und Antibiotika veranschaulichen jeweils das genetisch und biochemisch unterschiedliche Verhalten der Keime.

K i r c h h o f f (1962) konnte z.B. bei einem Stamm von E.coli O 111 eine gewisse Resistenzsteigerung gegenüber quartären Ammoniumverbindungen erzielen, die nach drei bis vier Wochen dauernden

Passagen sich nicht verlor, sondern erblich war. Eine Steigerung der Widerstandsfähigkeit gegen Desinfektionsmittel war jedoch nur um das 16-fache im Höchstfall möglich (23). Brauss fand nach 50 Passagen keine Erhöhung der Widerstandsfähigkeit von Coli- und Staphylococcen-Stämme gegenüber Tego 103 S, einer hier untersuchten Ampholytseife (1a). Lück und Rickert erreichten wie viele vor ihnen hingegen Resistenzsteigerungen gegenüber Antibiotika um mehr als das 1000-fache. Bei der Frage nach der Ursache des unterschiedlichen Verhaltens der Keime gegenüber organischen Säuren, die zur Lebensmittelkonservierung gebraucht werden, (gegen die ebenfalls eine nur sehr geringe Resistenzsteigerung erreicht wurde) und Antibiotika kommen sie zur Ansicht, daß Antibiotika nur an einzelnen spezifischen Punkten in der Zelle angreifen, deren Änderung leichter möglich ist als die sehr komplexe Wirkungsweise der organischen Säuren (32). Ähnlich verhalten sich wahrscheinlich die Wirkungsweisen der Antibiotika und Desinfektionsmittel zueinander.

Desinfektionsmittel und Antibiotika sprechen verschiedene Enzymsteme an und rufen sicherlich andere Stoffwechselangleichungen hervor. Über die Wirkung der Desinfektionsmittel auf die Enzyme der Bakterienzelle wurde schon bei der Wirkungsweise des Sagrotans berichtet. Zum Einfluß der Antibiotika auf die Zellenzyme sei auf ausführliche Literatur verwiesen (9); (13); (21); (40). Ebenso spielt die Beschaffenheit der Zellwand des Mikroorganismus eine entscheidende Rolle für das unterschiedliche Verhalten gegenüber

verschiedenen Antibiotika (44) und Desinfektionsmittel und den in ihrem Aufbau völlig verschiedenen Substanzen, die auf die Zellmembran einwirken.

Für die Praxis bedeutet dies, daß ein Resistenzverhalten der *Dyspepsiecoli* gegenüber Antibiotika keinerlei Aufschluß über ihre allgemeine Lebensfähigkeit bzw. über ihr Verhalten gegenüber Desinfektionsmittel gibt.

Zu gleichem Ergebnis kam B r a u s s nach Versuchen mit Colibakterien und *Staphylococcus aureus haemolyticus*, er sagt: "Antibiotika-Resistenz bedeutet also nicht Desinfektionsmittel-Resistenz" (1a).

Zusammenfassung

Es wurden 22 Dyspepsiecolistämme vom Serotyp O 114 und 8 weitere Säuglingsenteritis hervorrufende Stämme anderer Serotypen auf ihr Verhalten "in vitro" geprüft.

Das Verhalten der Stämme gegenüber Antibiotika war charakterisiert durch:

- 1) eine Mehrfachresistenz der Stämme vom Serotyp O 114, wobei 7 Stämme einen Resistenzverlust gegen Tetracyclin, Chloramphenicol, Sulfonamide und Antibiotika der Neomycingruppe aufzeigten. Die Mehrfachresistenz erwies sich nach drei- bis vierjähriger Lagerung auf Eiernährböden bei 7 Stämmen als nicht stabil;
- 2) eine Vollempfindlichkeit der anderen Serotypen.

Die Stämme verhielten sich gegenüber 7 Desinfektionsmitteln in subletaler Konzentration folgendermaßen:

- 1) eine unterschiedliche Widerstandsfähigkeit der einzelnen Stämme gegenüber einem Desinfektionsmittel;
- 2) ein sehr unterschiedliches Verhalten der einzelnen Stämme gegenüber verschiedenen Desinfektionsmitteln;
- 3) eine ausgeprägte Widerstandsfähigkeit einiger weniger Stämme gegenüber einer Reihe von Desinfektionsmitteln, unabhängig davon, ob sie dem Serotyp O 114 angehören oder nicht.

Eine gesetzmäßige Beziehung zwischen dem Verhalten der O 114-Stämme und anderer Serotypen, sowie der einzelnen Stämme untereinander, gegenüber Antibiotika- und Desinfektionsmitteleinwirkung, besonders im Hinblick auf die Mehrfachresistenz der O 114-Stämme und der Vollempfindlichkeit der übrigen Stämme gegenüber Antibiotika konnte nicht gefunden werden. Als Ursache dafür muß angenommen werden, daß Antibiotika und Desinfektionsmittel in verschiedene biochemische Stoffwechselreaktionen der Bakterien eingreifen.

Da die Widerstandsfähigkeit der einzelnen Stämme gegenüber Desinfektionsmitteln sehr unterschiedlich sein kann (bei Anwendung subletaler Konzentrationen) und die Antibiotikaresistenzbilder keinerlei Hinweis auf das Verhalten der Keime gegenüber Desinfektionsmittel geben, scheint es für die Praxis nützlich zu sein, stets eine Mehrzahl von Präparaten in zeitlicher Folge auch auf dem gleichen Desinfektionsgebiet anzuwenden. So kann eine Steigerung der Widerstandsfähigkeit gegen Desinfektionsmittel, wie sie bei *Dyspepsiecoli* gefunden wurden, vermieden werden.

In 7 Versuchsreihen erwiesen sich Sagrotan, Alkalysol, Incidin, Chloramin 80, Quartamon und Tego 103 S als wirksam gegenüber *Dyspepsiecolikeimen*, nicht dagegen Formalin innerhalb von 30 Minuten.

L i t e r a t u r

- (1) Adam, A.: Säuglingsenteritis (Georg Thieme/
Stuttgart 1956).
- (1a) Brauss, F.W.: Experimentelle Untersuchungen zum
Problem der Resistenz-Erhöhung. Arch.
Hyg. und Bakt. 143: 140-144 (1959).
- (2) Cooper, E.A.: a) The bactericidal action of cre-
sols and allied compounds. Brit. Med.
J. 1: 1234, 1293, 1359 (1912).
b) Relation of phenols and their deri-
vatives to proteins. Biochem. J. 7:
175-185 (1913).
- (3) Mc Culluch, E.C.: Desinfection and Sterilisation;
2. Aufl., a) S. 321 - 325.
b) S. 313 - 318 (Lea & Febinger/ Phila-
delphia 1946).
- (4) Eggenberger, Harriman, Mc Cloy, Noel and Harwood:
Ann. New York Acad. Sci. 53: 405 (1950).
- (5) Fleischhauer, G.: Über den Wert von Desinfektions-
mitteln bei Dyspepsiecolierkrankungen.
Med. Klinik. 17: 729-764 (1955).
- (6) Gale, E.F. and Taylor, E.S.: Action of tyrocidin
and some detergent substances in
releasing aminoacids from the inter-
nal environment of Streptococcus faeca-
lis. J. Gen. Microbiol. 1: 77-84 (1947).
- (7) Grün, L.: Organozinnverbindungen als Wirkstoffe
in Desinfektionsmitteln. "Zinn und sei-
ne Verwendung" Heft Nr. 60 (1964).

- (8) Die jeweiligen Wirkstofftypen der Desinfektionsmittel wurden entnommen aus:
- a) Gesundheitswesen und Desinfektion 6/1961, II. Liste
- der nach den "Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel" geprüften und von der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie als wirksam befundenen Desinfektionsmittel.
- Stand I. 1. März 1961.
- b) Gesundheitswesen und Desinfektion 10/1962.
2. Nachtrag zur II. Liste,
Stand September 1962.
- (9) Gillissen, G.: Die Beziehung zwischen Penicillin- und Streptomycinresistenz und Gehalt an Desoxyribonukleinsäure bei *M. pyogenes var aureus* und *E.coli* Z. Hyg. Infekt.-Krk. 146:97-104 (1959).
- (10) Habs, H.: a) Gutachten vom 12.8.1955 für die Firma Schülke & Mayr (Hamburg), Betr.: Prüfung des Präparates "Sagrotan".
- b) Quartamon "alt" und "neu", Referat aus den Veröffentlichungen der Firma Schülke & Mayr.
- (11) Heicken, K.: Über die Desinfektion infektiöser Abwässer. Zbl.Bakt. I. Orig. 165:160-196 (1956).

- (12) Hadfield, W.A.: Chlorine and Chlorine Compounds in Reddish, G.F.: Antiseptics, Desinfections, Fungicides and Sterilization, Second Edition. pp 568 - 572 (Londen 1957).
- (13) Heiss, F.: Vergleichende Untersuchungen mit E.coli zur Frage der Resistenzausbildung bei Chloramphenicoltherapie. Zbl.Bakt. I. Orig. 164: 227-229 (1955).
- (14) Heller, H.: Über Vorkommen, Resistenzlage und Resistenzentwicklung der Dyspepsiecoli im südbayrischen Raum; med. Dissertation (München 1962).
- (15) Holwerda, K.: Control and degree of reliability of chlorination process of drinking water in connection with chloramine procedure and chlorination of ammoniacal water. Mededeelingen van den Dienst der Volksgezondheid in Ned.-Indie. 17: pt2; 251 297 (1928).
- (16) Hoster, D.: Weitere Beobachtungen über das Vorkommen serologisch abgrenzbarer Coligruppen bei akuter Ernährungsstörung des Säuglings. Arch. Kinderheilk. 149:42-55 (1955).
- (17) Hotchkiss, R.D.: The nature of the bactericidal action of surface-active agents. Ann.New York Acad. Sci. 46:179-493 (1946).

- (18) Jacob und Wollman: C.R. Acad. Sci. Paris. 247: 154 (1958).
- (19) Jerchel, D.: Über Invertseifen. X. Mitteilung: Sulfonamidotetrazoliums Salze, Einwirkung auf die Glykolyse von Milchsäurebakterien. Ber. 75: 75-81 (1949).
- (20) Johns, C. K.: Germicidal potency of chlorine compounds. I. Hypochlorites. Sci. Agr. 14: 585-607 (1934).
- (21) Kayser F. und Metzinger, J.: Sulfonamidrésistance et teneur d'un microorganisme (E. coli) en coenzyme A. Compt rend Soc. biol. Paris. 148: 1460 (1954).
- (22) Kindler, F.: Zur Bakteriologie und Epidemiologie der Coli-Enteritis der Säuglinge; med. Diss. (München 1963).
- (23) Kirchhoff, H.: Untersuchungen über die Resistenzsteigerung von Bakterien gegen Desinfektionsmittel. Arch. Hyg. und Bakt. 146: 499-554 (1962).
- (24) Klarman, E.G. and Wright, E.S.: Phenolic Compounds; in Reddish, G.F.: Antiseptics, Desinfectants, Fungicides and Sterilization. Second Edition, pp 506-549 (Henry Kimpton/London 1957).
- (25) Klarman, E.G.; Shternov, V.A.; and Van Woweren, J.: The germicidal action of halogen derivatives of phenol and resorcinol and its impairment by organic matters.

J.Bact. 17:423-442 (1929);
The preparation of certain chloro-
and bromo-derivatives of 2,4-dihy-
droxydiphenylmethane and -ethane
and their germicidal action.J.Am.
Chem.Soc.51:605-610 (1929).

- (26) Lammers, T.: Gutachten vom 4.11.1963 für die
Desowag-Chemie (Düsseldorf).
Brauchbarkeit von "Incidin" zur
Wäschedesinfektion bei Tuberkulo-
se.
- (27) Lawrence, C.A.: Quarternary Ammonium Compounds
in Reddish: pp 581-584.
- (28) Lebek, G.: a) Über die Entstehung mehrfachresi-
stenter Salmonellen. Ein experi-
menteller Beitrag.Zbl.Bakt.I.Orig.
188:494-505 (1963).
b) Übertragung der Mehrfachresistenz
gegen Antibiotika und Chemothera-
peutika von E.coli auf andere Spe-
cies gram-negativer Bakterien. Ex-
perimenteller Beitrag.Zbl.Bakt.I.
Orig.189:213-223 (1963).
c) Die Übertragung der Mehrfachresi-
stenz gegen Antibiotika in ihrer
Bedeutung für den Hospitalismus mit
gram-negativen Darmkeimen.Zbl.Bakt.
I. Orig.191:387-395 (1963/64).
- (29) Linzenmeier, G.:
a) Zur Antibiotika- und Sulfonamid-Emp-

findlichkeit einiger praktisch wichtiger Bakterien. Deutsche med. Wschr. 81:965-968 (1956).

b) Zur Bewertung einer vereinfachten Hemmhofmethode. Zbl. Bakt. I. Orig. 167:327-329 (1956).

c) Die Resistenzbestimmung. Indikation, Fehlerquellen, und Leistungsfähigkeit. Deutsche med. Wschr. 84:1002-1005 (1959).

(30) Linzenmeier, G.; Freislederer, W.; Apak, S.; und Metz, H.:

Bakteriologische und therapeutische Beobachtungen bei Säuglingsdyspepsien, verursacht durch klassische und neue Serotypen von E.coli. Münchner med. Wschr. 29:1398-1403 (1961).

(31) Linzenmeier, G.; Scheppe und Schuster, W.: Colistin bei Säuglings-Enteritis durch E.coli O 114. Deutsche med. Wschr. 87:246-249 (1962).

(32) Lück, H. und Rickerl, E.: Untersuchungen an Escheria Coli über eine Resistenzsteigerung gegen Konservierungsmittel und Antibiotika. Zschr. Lebensm.-Untersuch. 109:322 - 329 (1959).

(33) Malchenkov, A.M.; Kirov, S.M.: The influence of desinfectants on the morphology and biology of the bacterial cell. (Investigation by electron micros-

copy of the structural and morphological changes in E.coli).
Z.H. MikrobiEpid.I.Immunobiol.
1962,8(3-8) Illus. 6; aufgeführt
in Excerpta Medica, Sektion IV,
Abbst No. 3872, 1963.

- (34) Müller, B.F.; Baker, Z. and Harrison, R.W.:
Action of a Quarternary ammonium
type of wetting agent on metabo-
lism of micro-organism associated
with dental caries.Proc.Scoc.Exptl.
Biol. Med. 42:705-706, (1939).
- (35) Neely, W.B.: a) Action of Formaldehyd on Micro-
organism. I. Correlation of acti-
vity with formaldehyd metabolism.
J.Bact.85:1028-1031 (1963).
b) Action of formaldehyd on micro-
organism. II. Formation of 1,3-
tiazane-4-carboxylic acid in Aero-
bacter aerogenes treated with form-
aldehyd.J.Bact.85:420-442 (1963).
c) Action of formaldehydon micro-
organism. III. Bactericidal action
of sublethal concentrations of Form-
aldehyd on Aerobakter aerogenes.J.
Bact.86:445-448 (1963).
- (36) Ocklitz, H.W.: Die Prophylaxe; in Adams, A.
Säuglingsenteritis, pp. 491-524.
(Georg Thieme/Stuttgart 1956).

- (37) Ordal, E.J., and Borg, A.F.: Effect of surface active agents on oxidation of lactate by bacteria. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 50:332-336 (1942).
- (38) "Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel" herausgegeben von der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie. (Stuttgart 1955).
- (39) Roberts, M.H. and Rahn, O.: The amount of enzyme inactivation at bacteriostatic and bactericidal concentrations of disinfectants. J. Bact. 52:639-644 (1946).
- (40) Saz, A.K., Brownell, L.W., and Slic, R.B.: Aureomycinresistent all-free nitro reductase from aureomycin-resistant Escheria coli. J. Bact., Baltimore. 71:421-424 (1956).
- (41) Sevag, M.G., and Ross, O.A.: Mechanism of the inhibitory action of zephiran on yeast cells. J. Bact. 48:677-682 (1944).
- (42) Smelkes, F.C., and Horning, E.S.: Bactericidal action of azorchloramici (N-N-dichloroazodicarbonamide). J. Bact. 29: 323-331 (1935).
- (43) Skvortsova, E.K., and Likhacheva, N.P.: Electron microscopic study of morphological changes produced by phenol preparations in E.coli and B. Anthracoides. Z.H. Mikrob. Epid. I Immunobiol. 1963,

1 (88-91) Illus.2.; aufgeführt in
Excerpta Med., Sekt. IV: Abbst No.
3869 (1963).

- (44) Stehr, K.: Über therapieresistente Enterobakterien. Ihre Biologie und ihre Bedeutung für die enteralen Infektionen der Säuglinge. Beihefte zum Archiv für Kinderklinik. 49:18-24 (Ferdinand Enke/Stuttgart 1963).
- (45) Watanabe, T. and Fukasawa, T.: Episomie-mediated transfer of drug resistance in enterobacteriaceae. I. Transfer of resistance factors by conjugation. J. Bact. 81:669-678 (1961).
- (46) Veröffentlichungen über Tego-Präparate der Th. Goldschmidt A.G., Essen.

D A N K S A G U N G

An dieser Stelle sei allen herzlich gedankt, die zum Gelingen dieser Arbeit beitrugen.

Ganz besonderer Dank gilt dem Direktor des Max v. Pettenkofer-Institutes München, Herrn Prof. Dr. Dr. EYER für seine Erlaubnis, die Arbeit an seinem Institut durchzuführen.

Herrn Prof. Dr. G. LINZENMEIER möchte ich meinen innigsten Dank für die Überlassung des Themas aussprechen und ebenso für seinen niemals ermüdenden Beistand bei allen Fragen dieser Arbeit.

L E B E N S L A U F

Am 6.4.40 als Sohn des Zahnarztes Dr. Felix Ascher und dessen Ehefrau Dr. Ursula Ascher, geb. Weisbrich, in München geboren, absolvierte ich, Stefan Ascher, im Juni 1959 das Realgymnasium L.E.H. Neubuurn am Inn.

Im Herbst des gleichen Jahres immatrikulierte ich mich an der Medizinischen Fakultät der Universität München und legte hier auch im Sommer 1962 die ärztliche Vorprüfung ab. Nach einem Semester Auslandsstudium an der Medizinischen Fakultät der Universität Paris bestand ich nach weiteren 5 klinischen Semestern in München die ärztliche Prüfung. Zur Zeit bin ich auf der chirurgischen Abteilung des Krankenhauses re. der Isar in München als Medizinalassistent tätig.

